

Physiological and molecular biological studies on involvement of C-ABI3 on acquisition of abscisic acid-induced desiccation tolerance

著者	Shiota Hajime
内容記述	Thesis (Ph. D. in Science)--University of Tsukuba, (A), no. 2013, 1999.3.25
発行年	1999
その他のタイトル	ニンジン不定胚のアブシジン酸誘導性乾燥耐性獲得におけるC-ABI3の関与に関する生理学的・分子生物学的研究
URL	http://hdl.handle.net/2241/5309

氏 名 (本 籍)	塩 田 肇 (三重県)
学 位 の 種 類	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 2,013 号
学位授与年月日	平成11年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	Physiological and Molecular Biological Studies on Involvement of C-ABI3 on Acquisition of Abscissic Acid-Induced Desiccation Tolerance (ニンジン不定胚のアブシジン酸誘導性乾燥耐性獲得におけるC-ABI3の関与に関する生理学的・分子生物学的研究)
主 査	筑波大学教授 理学博士 鎌 田 博
副 査	筑波大学教授 理学博士 白 岩 善 博
副 査	筑波大学教授 農学博士 田 仲 可 昌
副 査	筑波大学助教授 医学博士 中 山 和 久

論 文 の 内 容 の 要 旨

高等植物の種子胚は一般的に強い乾燥耐性を有し、この乾燥耐性獲得においては植物ホルモンの一種であるアブシジン酸 (ABA) が必須であり、また、突然変異体の解析から、種子におけるABA の情報伝達においては、VP1/ABI3因子が関与することが示唆されている。しかし、その直接的な証明はこれまでなされていない。一方、高等植物においては、体細胞であっても特定の条件下で培養すると受精胚と類似の形態変化を経て幼植物体へと再分化することが知られている。この現象は体細胞不定胚形成と呼ばれ、受精胚発生のモデル系として多くの研究がなされてきた。特にニンジンでは、さまざまな不定胚誘導法が開発され、発生段階の揃った不定胚を大量に製整することが可能である。そこで、本論文では、種子胚では解析が困難な胚の乾燥耐性獲得機構について、体細胞不定胚の特性を活用し、胚におけるABA の情報伝達因子と考えられるVP1/ABI3 因子を中心に詳細な検討を行っている。

本論文では、まずはじめに、PCR法を活用し、ニンジン不定胚のcDNAライブラリーからVP1/ABI3因子のニンジンホモログであるC-ABI3 (全長cDNA) を単離した。さらに、サザン分析やC-ABI3 ゲノム遺伝子の構造解析等を行い、本遺伝子がVP1/ABI3因子のニンジンにおける唯一のホモログであることを明らかにした。次に、ノーザン解析によってその発現を詳細に調べ、本遺伝子が不定胚および種子胚の両方で強く発現すること、胚としての形態分化をしていないものの不定胚形成能力を獲得している細胞 (EC) でも発現していること、それ以外の細胞・組織・器官においては発現していないことを示し、胚特異的に発現することを明らかにした。

このようなC-ABI3 遺伝子の発現は、内生あるいは外生のABA によって乾燥耐性が獲得される細胞・組織・器官に限定されていることから、C-ABI3 が胚の乾燥耐性獲得に重要な働きを持つことが予想された。そこでこの点を直接的に証明するため、ABA による乾燥耐性獲得が見られない細胞・組織・器官でC-ABI3 遺伝子を異所的に強制発現させることを試みている。その結果、C-ABI3 遺伝子をニンジン植物体の葉で発現させたところ、乾燥耐性獲得の有無は明確には示せなかったものの、ABA 誘導的に種子胚乾燥時に特異的に発現するLEA 蛋白質遺伝子群のうち数種が葉で新たにABA 誘導的に発現するようになることを示した。さらに、乾燥耐性も持たず不定胚形成能も持たないニンジン培養細胞 (NC) でC-ABI3 遺伝子を発現させたところ、数種LEA 蛋白質遺伝子が新たにABA 誘導的に発現するようになることを明らかにし、さらに、このような細胞は胚と比較する

と弱いものの、明確な乾燥耐性を新たに獲得していることを明らかにした。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、発達段階の揃った胚を大量に調整できるニンジン不定胚の特性を活用し、種子胚では解析が困難であった胚の乾燥耐性獲得の分子機構について、胚におけるABA 情報伝達の仲介因子であるVP1/ABI3因子を中心に解析を行い、VP1/ABI3 のニンジンホモログである C-ABI3 が乾燥耐性獲得と密接に関わって発現すること、C-ABI3 遺伝子を異所的に発現させた形質転換体や形質転換細胞では乾燥耐性獲得時に胚特異的に発現する各種遺伝子の発現がABA 処理によって新たに見られるようになること等を明らかにし、C-ABI3 が胚におけるABA 情報伝達の仲介因子として実際に機能することを明確に示したばかりでなく、形質転換細胞をABA で処理することによって乾燥耐性が新たに付与されることを世界で初めて明らかにしたものである。胚の乾燥耐性獲得についてはABA が必須であり、その情報伝達因子としてのVP1/ABI3因子の関与、特に乾燥耐性獲得における関与についてはこれまで間接的には示されてきていたものの直接的な証明はなされていなかった。本研究はこの点について不定胚の特性を有効に利用することで世界で初めて直接的な証明を与えたものであり、高く評価できる。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。